

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Hideki THODA, et al.

SERIAL NO: NEW APPLICATION

FILED: HERewith

FOR: METHOD OF CONSTRUCTING HOST AND METHOD OF PRODUCING HETEROLOGOUS PROTEIN

REQUEST FOR PRIORITY

COMMISSIONER FOR PATENTS
ALEXANDRIA, VIRGINIA 22313

SIR:

☒ Full benefit of the filing date of International Application Number PCT/JP02/05223, filed May 29, 2002, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.

☐ Full benefit of the filing date(s) of U.S. Provisional Application(s) is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e): Application No. Date Filed

☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NUMBER</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	2001-160128	May 29, 2001

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

☒ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

☐ were filed in prior application Serial No. filed

☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number

Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and

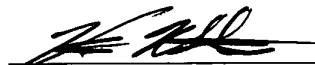
☐ (B) Application Serial No.(s)

☐ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon

Registration No. 24,618

Customer Number

22850

Tel. (703) 413-3000
Fax. (703) 413-2220
(OSMMN 05/03)

Vincent K. Shier, Ph. D.
Registration Number 50,552

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年 5月29日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-160128

[ST.10/C]:

[JP2001-160128]

出 願 人

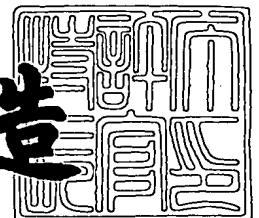
Applicant(s):

旭硝子株式会社

2002年 6月11日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2002-3046109

【書類名】 特許願

【整理番号】 20010346

【提出日】 平成13年 5月29日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/81
C12N 1/19

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町 1 1 5 0 番地 旭硝子株式会社内

【氏名】 東田 英毅

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市神奈川区羽沢町 1 1 5 0 番地 旭硝子株式会社内

【氏名】 浜 祐子

【発明者】

【住所又は居所】 東京都千代田区有楽町一丁目 1 2 番 1 号 旭硝子株式会社内

【氏名】 熊谷 博道

【特許出願人】

【識別番号】 000000044

【氏名又は名称】 旭硝子株式会社

【代表者】 石津 進也

【電話番号】 03-3218-5645

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 042619

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】明細書

【発明の名称】宿主の構築方法および異種タンパク質の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

遺伝子組換え法により導入した遺伝子がコードする異種タンパク質を産生させるための真核細胞微生物宿主を構築する方法において、異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的として、前記宿主の形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害な真核細胞微生物宿主のゲノム部分の一部または全部を削除または不活化することを特徴とする真核細胞微生物宿主の構築方法。

【請求項 2】

形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分が、真核細胞微生物宿主の、エネルギー代謝関連遺伝子群、プロテアーゼ関連遺伝子群、減数分裂関連遺伝子群、転写関連遺伝子群、細胞の成長、分裂、DNA合成に関連する遺伝子群、タンパク質合成関連遺伝子群、膜輸送関連遺伝子群、細胞構造維持関連遺伝子群、情報伝達関連遺伝子群またはイオン恒常性関連遺伝子群である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

真核細胞微生物が、シゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質の産生に不要または有害なシゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)のゲノム部分が、ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子またはセリンプロテアーゼ遺伝子である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

請求項 1 または 2 に記載の構築方法で構築された、遺伝子組換え法により導入された遺伝子がコードする異種タンパク質を産生させるための真核細胞微生物宿主。

【請求項 6】

真核細胞微生物が、シゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)である、請求項 5 に記載の宿主。

【請求項 7】

異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的として、形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分の一部または全部を削除または不活化した真核細胞微生物宿主に、異種タンパク質をコードする構造遺伝子を導入してなる形質転換体。

【請求項 8】

形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分が、エネルギー代謝関連遺伝子群、プロテアーゼ関連遺伝子群、減数分裂関連遺伝子群、転写関連遺伝子群、細胞の成長、分裂、DNA 合成に関連する遺伝子群、タンパク質合成関連遺伝子群、膜輸送関連遺伝子群、細胞構造維持関連遺伝子群、情報伝達関連遺伝子群またはイオン恒常性関連遺伝子群である、請求項 7 に記載の形質転換体。

【請求項 9】

真核細胞微生物が、シゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)である、請求項 7 または 8 に記載の形質転換体。

【請求項 10】

真核細胞微生物宿主が本来有しない異種タンパク質をコードする遺伝子を導入した該宿主の形質転換体に該異種タンパク質を産生させ、該異種タンパク質を採取する方法において、前記形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分の一部または全部を削除または不活化した真核細胞微生物宿主を用いて該形質転換体の異種タンパク質産生効率を向上させることを特徴とする異種タンパク質の製造方法。

【請求項 11】

形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分が、エネルギー代謝関連遺伝子群、プロテアーゼ関連遺伝子群、減数分裂関連遺伝子群、転写関連遺伝子群、細胞の成長、分裂、DNA

合成に関連する遺伝子群、タンパク質合成関連遺伝子群、膜輸送関連遺伝子群、細胞構造維持関連遺伝子群、情報伝達関連遺伝子群またはイオン恒常性関連遺伝子群である、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

真核細胞微生物が、シゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)である、請求項10または11に記載の方法。

【請求項13】

形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分が、ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子またはセリンプロテアーゼ遺伝子である、請求項12に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、真核細胞微生物宿主の形質転換体による異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的として真核細胞微生物のゲノム部分を改変した該宿主、該宿主の構築方法、該宿主の形質転換体、および該形質転換体を用いたタンパク質の製造方法に関する。該真核細胞微生物としては、分裂酵母と呼ばれるシゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*、以下*S.pombe*という)が好ましい。

【0002】

【従来の技術】

組換えDNA技術を用いた異種タンパク質の生産はエッシェリシア・コリ (*Escherichia coli*、以下*E.coli*という)をはじめとした様々な微生物や動物細胞を宿主として行われている。また様々な生物由来のタンパク質(本明細書では、ポリペプチドを含む意味で使用する)が生産対象とされ、既に多くのものが工業的に生産され、医薬品等に用いられている。

【0003】

異種タンパク質生産のための種々の宿主が開発されてきた中で酵母は真核細胞であるため、転写、翻訳などの点で動植物と共通性が高く動植物のタンパク質発

現が良好であると考えられ、パン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) などが宿主として広く使用されている。酵母のうちでも特に *S.pombe* は進化過程で他の酵母とは早い時期に分かれ、別の進化をとげた結果、出芽ではなく分裂という手段で増殖することからもわかるように、動物細胞に近い性質を持つことが知られている。このため異種タンパク質を発現させる宿主として *S.pombe* を用いることによって、動物細胞の場合と同様の、より天然体に近い遺伝子産物が得られることが期待される。

【0004】

S.pombe を用いた遺伝子発現に関する研究は遅れていたが、最近 *S.pombe* で働く強力なプロモーターの発見がなされたため、*S.pombe* を宿主とした発現系の開発が急速に進み、さらにより安定な効率の良い発現システムを開発するために発現ベクターに種々の改良が加えられている（特許2776085、特開平07-163373、特開平10-215867、特開平10-234375、特開平11-192094、特開平2000-136199、特開平2000-262284等参照）。その結果、現在 *S.pombe* を宿主とした発現系としては高い生産能力を示すに至った。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

酵母などの真核細胞微生物を用いた異種タンパク質生産系は、既に知られている微生物学の方法と組換えDNA技術を用いて容易に実施でき、かつ高い生産能力を示すため、既に大容量の培養も実施されて実生産に急速に利用されてきている。実生産にあたり、実験室で得られた菌体あたりの高い産生効率はスケールアップ後も維持される。

【0006】

しかしながら、実生産の場合にしばしば求められる、より低コストの生産法を考えた場合、菌体の増殖効率そのものの向上、目的異種タンパク質の分解の抑制、真核細胞微生物特有の修飾の効率的実施、栄養源の利用効率の向上、などの異種タンパク質の産生効率を向上させる方策が必要と考えられる。たとえば、生育のために培地に添加した炭素源から目的とする異種タンパク質への変換効率をより高めることができれば、菌体増殖ひいては異種タンパク質の産生効率が格段に

上昇することが期待される。なぜなら、菌体自身の生育や目的異種タンパク質の産生に不要である代謝系（たとえばエタノール醗酵系）に培地中の炭素源が消費（たとえばエタノール生産に使用）されることにより、目的異種タンパク質の産生のための炭素源の利用効率が低下していると考えられるからである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者は以上の点に鑑み検討を行った結果、形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害な宿主ゲノム部分の一部または全部を削除または不活化することにより異種タンパク質の産生効率を向上させうることを見い出した。本発明は、異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的とした、真核細胞微生物宿主の構築方法、その構築方法により構築された宿主、その宿主に異種タンパク質をコードする遺伝子を導入した形質転換体、およびその形質転換体を用いた異種タンパク質の製造方法にかかわる下記の発明である。

【0008】

（１）遺伝子組換え法により導入した遺伝子がコードする異種タンパク質を産生させるための真核細胞微生物宿主を構築する方法において、異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的として、前記宿主の形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害な真核細胞微生物宿主のゲノム部分の一部または全部を削除または不活化することを特徴とする真核細胞微生物宿主の構築方法。

【0009】

（２）上記の構築方法で構築された、遺伝子組換え法により導入された遺伝子がコードする異種タンパク質を産生させるための真核細胞微生物宿主。

【0010】

（３）異種タンパク質の産生効率を向上させることを目的として、形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分の一部または全部を削除または不活化した真核細胞微生物宿主に、異種タンパク質をコードする構造遺伝子を導入してなる形質転換体。

【0011】

(4) 真核細胞微生物宿主が本来有しない異種タンパク質をコードする遺伝子を導入した該宿主の形質転換体に該異種タンパク質を産生させ、該異種タンパク質を採取する方法において、前記形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分の一部または全部を削除または不活化した真核細胞微生物宿主を用いて該形質転換体の異種タンパク質産生効率を向上させることを特徴とする異種タンパク質の製造方法。

【0012】

上記異種タンパク質産生に不要または有害なゲノム部分としては、エネルギー代謝関連遺伝子群、プロテアーゼ関連遺伝子群、減数分裂関連遺伝子群、転写関連遺伝子群、細胞の成長、分裂、DNA合成に関連する遺伝子群、タンパク質合成関連遺伝子群、膜輸送関連遺伝子群、細胞構造維持関連遺伝子群、情報伝達関連遺伝子群またはイオン恒常性関連遺伝子群が好ましい。

【0013】

真核細胞微生物としては、酵母が適当であり、そのうちでも*S.pombe*が特に好ましい。さらに、*S.pombe*における異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分における遺伝子としては、ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子およびセリンプロテアーゼ遺伝子が好ましい。

【0014】

【発明の実施の形態】

本発明において、真核細胞微生物としては菌類が好ましく、特に単細胞性菌類（すなわち、酵母）が好ましい。酵母としては、前記パン酵母などのサッカロマイセス属の酵母、*S.pombe*などのシゾサッカロマイセス属の酵母、ピキア属の酵母などが好ましい。その他、アスペルギルス属、リゾプス属、ペニシリウム属、その他の真核細胞微生物がある。本発明において特に好ましい真核細胞微生物はシゾサッカロマイセス属の酵母、特に*S.pombe*である。以下の説明において宿主とは特に言及しない限りこれら真核細胞微生物からなる宿主をいう。

【0015】

宿主にその宿主が本来有しないタンパク質（すなわち、異種タンパク質）をコードする遺伝子（以下、異種遺伝子という）を遺伝子組換え法により導入し、異

種遺伝子を導入した宿主（すなわち、形質転換体）にその異種タンパク質を産生させ、その異種タンパク質を採取する方法は近年広く行われている。形質転換体を培養して異種タンパク質を産生させる場合、形質転換体の培養環境下において異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分が存在する。このゲノム部分は遺伝子であってもよく非遺伝子部分であってもよい。好ましくは、ゲノムの遺伝子部分であり、その遺伝子を削除または不活性化して形質転換体の異種タンパク質の産生効率を向上させる。このような不要または有害な遺伝子はゲノムに多数存在すると考えられる。本発明においてはこのような多数の遺伝子の一部を削除または不活性化することによって充分目的を達成しうる。

【0016】

形質転換体の異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分は宿主が野生の環境下において生存、増殖するために必須の遺伝子であってもよい。そのような必須の遺伝子は、形質転換体培養環境下においては必ずしも必須とされないからである。例えば、炭素源からある栄養源に転換するために必要な遺伝子は、培養環境（培養液）にその栄養源を添加することにより不要となる場合がある。また、酵母などにおいては、増殖は出芽や分裂によって行われ、減数分裂を経ることなく増殖可能である。したがって、減数分裂に関連する遺伝子群は形質転換体の培養環境下においては必ずしも必要とされない。このような不要な遺伝子の存在は形質転換体の増殖や異種タンパク質の産生に負荷となり、したがって、このような遺伝子を削除または不活性化することにより負荷が低減され、異種タンパク質の産生効率を向上できる。

【0017】

一方、例えば、プロテアーゼ関連遺伝子群の遺伝子は、異種タンパク質の産生に対し阻害要因となりやすい。異種タンパク質は本来宿主にとって不要な産生物であることより、形質転換体は産生した異種タンパク質をプロテアーゼにより分解する傾向がある。異種タンパク質の分解は異種タンパク質の産生効率を低下させる要因の一つと考えられ、したがって、このようなプロテアーゼを産生する遺伝子を削除または不活性化することにより異種タンパク質の産生効率を向上できる。

【0018】

上記のような異種タンパク質の産生に不要または有害な遺伝子としては、エネルギー代謝関連遺伝子群、プロテアーゼ関連遺伝子群、減数分裂関連遺伝子群、転写関連遺伝子群、細胞の成長、分裂、DNA合成に関連する遺伝子群、タンパク質合成関連遺伝子群、膜輸送関連遺伝子群、細胞構造維持関連遺伝子群、情報伝達関連遺伝子群またはイオン恒常性関連遺伝子群などの遺伝子が好ましい。特に好ましい遺伝子はエネルギー代謝関連遺伝子群とプロテアーゼ関連遺伝子群の遺伝子である。

【0019】

エネルギー代謝関連遺伝子群の遺伝子としては、エタノール醗酵に関連した遺伝子が好ましい。エタノール醗酵に関連した遺伝子の代表例としてピルビン酸デカルボキシラーゼをコードする遺伝子（ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子）がある。ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子を削除または不活性化することにより、形質転換体の培養においてエタノール醗酵が生じにくくなり、その分エネルギーがシンターゼ等に配分されやすくなって異種タンパク質の産生効率が向上すると考えられる。

【0020】

プロテアーゼ関連遺伝子群の遺伝子としては、セリンプロテアーゼなどのエンドペプチダーゼをコードする遺伝子やアミノペプチダーゼなどのエキソペプチダーゼをコードする遺伝子がある。特にセリンプロテアーゼをコードする遺伝子（セリンプロテアーゼ遺伝子）が好ましい。このようなプロテアーゼ関連遺伝子の削除または不活性化は、前記のように異種タンパク質の分解を抑制して異種タンパク質の産生効率を向上させると考えられる。

【0021】

宿主のゲノム部分の削除や不活性化は公知の方法で行うことができる。また、削除や不活性化を行う部分はゲノムの1ヶ所であってもよく、2ヶ所以上の部分であってもよい。削除や不活性化を行う部分が遺伝子の場合、1つの遺伝子について削除や不活性化を行ってもよく、2以上の遺伝子のそれぞれについて削除や不活性化を行ってもよい。また遺伝子の削除や不活性化を行う部分は構造配列部

分であってもよく、調節配列部分であってもよい。

【0022】

遺伝子の削除は遺伝子の全体を削除してもよく、遺伝子の一部を削除して遺伝子を不活性化してもよい。また遺伝子の不活性化は、遺伝子の一部を削除することに限られず、遺伝子を削除なしに改変する場合も意味する。また、不活性化の対象である遺伝子の配列の中に他の遺伝子やDNAを挿入して遺伝子を不活性化することもできる。いずれの場合も、対象遺伝子を活性のないタンパク質をコードするものとしたり、対象遺伝子が転写や翻訳できないものにしたりして、不活性化なものとする。

【0023】

異種タンパク質としては、限定されるものではないが、多細胞生物である動物や植物が産生するタンパク質が好ましい。特に哺乳動物（ヒトを含む）の産生するタンパク質が好ましい。このようなタンパク質はE.coliなどの原核細胞微生物宿主を用いて製造した場合活性の高いタンパク質が得られない場合が多く、またCHOなどの動物細胞を宿主として用いた場合には通常産生効率が低い。本発明における遺伝子改変した真核細胞微生物を宿主とする場合はこれらの問題が解決されることが考えられる。

【0024】

【実施例】

以下に本発明を具体的な実施例によりさらに詳細に説明する。

【0025】

[実施例1]

ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子pdc1の不活化による、オワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質の産生効率の向上。

分裂酵母S.pombeのピルビン酸デカルボキシラーゼをコードする遺伝子pdc1 (S PAC1F8.07c) のORF (タンパク質をコードする部分) 1785bp内にS.pombeのオロチジンリン酸デカルボキシラーゼ遺伝子断片1.8kbpを挿入し、該遺伝子破壊ベクターを作製した。本ベクターを用いてウラシル要求性緑色蛍光タンパク質生産株 (特開2000-262284公報記載の8重組込み型生産系に

における酵母菌株に対してそのオロチジンリン酸デカルボキシラーゼ活性を遺伝子破壊法によって不活性化したもの) を形質転換した。最小培地にコロニーを形成するウラシル非要求性の株を取得し、PCR増幅法によってそのゲノムDNAを調べたところ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子が破壊されていた。

【0026】

この形質転換体を用いた緑色蛍光タンパク質生産試験を、培地をYPD液体（酵母エキス（DIFCO社製）1%、バクトペプトン（DIFCO社製）2%、ブドウ糖（和光純薬社製）2%）とし、培養器の形状を試験管にて行ったところ、単位菌体あたりの生産量が元株に比べて増加していた。すなわち、マイクロプレートリーダー（コロナ社製MTP-32+MTPF2）を用いた励起波長490nm蛍光波長530nmの観察において、その値が上昇した。

【0027】

[実施例2]

セリンプロテアーゼ遺伝子isp6の不活化による、オワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質の産生効率の向上。

【0028】

分裂酵母*S.pombe*のセリンプロテアーゼ遺伝子をコードする遺伝子isp6（SPAC4A8.04）のORF1404bp内に*S.pombe*のオロチジンリン酸デカルボキシラーゼ遺伝子断片1.8kbpを挿入し、該遺伝子破壊ベクターを作製した。本ベクターを用いて実施例1と同じウラシル要求性緑色蛍光タンパク質生産株を形質転換した。最小培地にコロニーを形成するウラシル非要求性の株を取得し、PCR増幅法によってそのゲノムDNAを調べたところ、セリンプロテアーゼ遺伝子が破壊されていた。

【0029】

この形質転換体を用いた緑色蛍光タンパク質生産試験を、実施例1と同様に培養したところ、単位菌体あたりの生産量が元株に比べて増加していた。すなわち、マイクロプレートリーダー（コロナ社製MTP-32+MTPF2）を用いた励起波長490nm蛍光波長530nmの観察において、その値が上昇した。

【0030】

【発明の効果】

分裂酵母*S. pombe*のピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子やセリンプロテアーゼ遺伝子を不活性化することにより、分裂酵母*S. pombe*を宿主とする形質転換体の異種タンパク質の産生効率が向上した。このように、真核細胞微生物を宿主とし、遺伝子組換え法により異種タンパク質をコードする遺伝子を導入した形質転換体の異種タンパク質生産系において、形質転換体の培養環境下において異種タンパク質の産生に不要または有害なゲノム部分を削除または不活性化することにより、異種タンパク質の産生効率が向上する。

【書類名】要約書

【要約】

【課題】遺伝子組換え法により導入した遺伝子がコードする異種タンパク質を産生させるための真核細胞微生物宿主を構築する方法において、宿主に異種タンパク質をコードする遺伝子を導入した形質転換体における異種タンパク質の産生効率を向上させる。

【解決手段】形質転換体の培養環境下において該形質転換体の異種タンパク質産生に不要または有害な真核細胞微生物宿主のゲノム部分の一部または全部を削除または不活化する。

【選択図】なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000044]

1. 変更年月日 1999年12月14日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都千代田区有楽町一丁目12番1号

氏 名 旭硝子株式会社